

8. 免疫部

部長 高橋 宜聖

概要

免疫部は感染症、すなわち、病原体—宿主関係を宿主応答の視点から感染症の制圧研究を推進している。「Translational medical research(橋渡し医学研究)を推進することにより、研究室で得られた研究成果を医療や社会に還元し、健康増進や感染症によるヒトの健康被害の減少」を究極の目標として、部員一同、邁進している。また、国立感染症研究所において、免疫部は感染免疫の学問領域から所内横断的協力体制に加えて、人材育成や国際化に対応するため、研修や国際協力にも参加している。

免疫部では、ウイルス、細菌など、多種多様な病原体感染症に関する研究、生物毒素および抗毒素治療に関する研究、免疫機能に関する研究を実施した。また、品質管理に関する業務、国際協力関係業務、研修業務や共同利用機器管理にも寄与した。

免疫部で実施された研究・業務の概要は以下のとおりである。

調査・研究

I. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス(HIV)に関する免疫研究
2. インフルエンザウイルスに関する免疫研究
3. ノロウイルスに関する免疫研究
4. RSウイルスに関する免疫研究
5. その他ウイルスに関する免疫研究

II. 細菌感染症

1. 抗酸菌感染症に関する研究
2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する免疫研究

III. 免疫機能に関する研究

1. 新規網羅的配列解析手法を用いた抗体レパトア総体の明示と逆遺伝学的抗体分子発現
2. ヒト化マウスの解析

IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケクモ抗毒素の力価試験の開発

品質管理に関する業務

- I. 国家検定
- II. 抜き取り検査
- III. 承認前試験
- IV. 標準品交付
- V. 体外診断薬委員会業務

国際協力関係業務

研修業務

共同利用機器管理

平成 30 年 6 月 15 日付で、橋香奈が第四室任期付研究員

として着任した。平成 31 年 1 月 1 日付で、森山彩野が任期付主任研究官として着任した。平成 31 年 2 月 16 日付で、岡部真裕子第二室研究員が退職した。

業績

調査・研究

I. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス(HIV)に関する免疫研究

(1) iPS 化 HIV 特異的 CTL による in vivo での HIV 制御効果の検証

立川室長が京都大学 iPS 細胞研究所の金子新教授との共同研究で作製した iPS 化 HIV 特異的 CTL (TiPS-CTL) の in vivo における HIV 制御効果を検証すべく、免疫不全マウスに TiPS-CTL (エフェクター) ならびに HIV-1 感染細胞(ターゲット)を移入してターゲットの細胞傷害効果を解析した。

[横田恭子(客員研究員)、寺原和孝、岩淵龍太郎(研究生)、三木祥治(流動研究員)、立川愛(エイズ研究センター)]

(2) HIV-1 潜伏化に関する研究

CD4 陽性 T 細胞は HIV-1 の主要な感染標的細胞であり、活性化状態ではウイルスが顕著に増幅される。一方で、静止期状態では潜伏感染リザーバーとして寄与することが知られている。しかしながら、静止期 CD4 陽性 T 細胞は多様な亜集団から構成されているが、実際にどのような亜集団が潜伏感染リザーバーと成り得るかは定かではない。そこでまず、静止期 CD4 陽性 T 細胞の HIV-1 感染性について評価したところ、ウイルスの細胞への結合量・侵入量は活性化 CD4 陽性 T 細胞におけるそれらとほぼ同レベルであることが確認された。そこで今後は、静止期 CD4 陽性 T 細胞を「ナイーブ」、「CCR5-メモリー」、「CCR5+メモリー」の 3 亜集団に分画し、これら亜集団の HIV-1 感染性ならびに潜伏化形成について解析する予定である。

[寺原和孝、岩淵龍太郎(研究生)、竹山春子(早稲田大学)、横田恭子(客員研究員)]

(3) 新規エイズワクチンの評価

センダイウイルス(SeV) ベクターを用いた新規標的断片連結抗原発現ワクチンの効果について SIV 感染サルモデルで解析した結果、腸管粘膜における選択的ウイルス特異的 CD8 陽性 T 細胞誘導能を確認し、さらに腸管感染防御効果を有する可能性が示された。

[寺原和孝、石井洋(エイズ研究センター)、俣野哲朗(エイズ研究センター)]

2. インフルエンザウイルスに関する免疫研究

(1) インフルエンザ交差防御性 B 細胞の新規評価モデル

免疫部

マウスの開発

インフルエンザウイルスへの交差防御能を示す抗体は、認識する抗原領域部位の違いによって抗体の産生過程や産生細胞の挙動に影響が出ることが予測される。これを詳細に解析するために交差防御性 B 細胞受容体遺伝子をノックインした遺伝子変異マウスを作ることとした。交差防御性抗体の軽鎖遺伝子配列と重鎖 V 領域遺伝子配列をレシピエントの IgM 遺伝子の定常領域前に挿入するプラスミドベクターをデザイン・作製し、ガイド RNA・Cas9 タンパク質とともにレシピエントとなる C57BL/6 受精卵にインジェクションした。この遺伝子変異マウスから得られた B 細胞を移植・免疫し免疫応答を解析することで交差防御性メモリー B 細胞の誘導・維持・再活性化に有効なワクチン抗原の評価が可能になることが期待される。

[森山彩野、中野堅太(国立国際医療研究センター)、岡村匡史(国立国際医療研究センター)、高橋宜聖]

(2) インフルエンザウイルスへの交差防御抗体を誘導する新しい抗原剤形に関する研究

インフルエンザウイルス経鼻感染後の肺組織において、交差防御能に優れた B 細胞が胚中心において産生されることをこれまでに見出している。そこで、シングル B 細胞培養系を用いて、肺組織における交差性 B 細胞レパトアの抗原領域を特定した。この領域を露出することで、交差性 B 細胞を誘導しやすくなることが予想されるヘマグルチニンタンパク質構造は、接種したマウスに、従来型ワクチンと比較して高濃度の交差抗体の誘導が確認された。さらに、同定した交差抗体レパトアの記憶 B 細胞は、多くのヒトに存在することを明らかとした。これらの結果から、同定したワクチン剤形は、ヒトに交差抗体を惹起可能な新たなワクチン剤形となる可能性が期待された。

[安達悠、登内奎介(実習生)、竹山春子(早稲田大学)、阿戸学(感染制御部)、Garnett Kelsoe(Duke 大学、米国)、高橋宜聖]

(3) カニクイザルを用いた新規インフルエンザワクチン剤形の免疫原性評価

マウスを用いた研究から、改変型インフルエンザヘマグルチニンタンパク質を用いて免疫することで、より効率的に交差防御能を持つ抗体が誘導されることをこれまでに見出している。ヒトへの応用を目指してカニクイザルに改変型インフルエンザヘマグルチニンタンパク質抗原を免疫したところ、複数種類のインフルエンザヘマグルチニンタンパク質に対する交差反応性抗体価の上昇が確認された。

[森山彩野、安達悠、山本拓也(医薬基盤・健康・栄養研究所)、高橋宜聖]

(4) 複数のインフルエンザ亜型ウイルスを防御する新規抗体の特定

改変型インフルエンザヘマグルチニンタンパク質を免疫することで、交差抗体を効率的に誘導可能であることをこれまでに見出している。そこでシングル B 細胞培養系を用いて、種々の亜型ウイルスに対する交差抗体レパトアの結合特性を評価した結果、広域かつ特異的な結合特性を示し、感染防御能を持つ抗体レパトアを見出した。この抗体レパトアの抗原領域は、既知の交差抗体の抗原領域とは

異なる可能性が示唆されたことから、新規交差抗体であることが期待される。

[登内奎介(実習生)、安達悠、森山彩野、竹山春子(早稲田大学)、高橋宜聖]

3. ノロウイルスに関する免疫研究

(1) ノロウイルス VLP ワクチンの免疫原性・有効性に関する研究

ノロウイルス感染症は急性感染性胃腸炎の約 90% を占め、ワクチンにより予防が望まれる感染症の 1 つである。本研究では現在開発が進められているヒトノロウイルス VLP ワクチンの有効性を調べるため、ヒト免疫系を移植したヒト化マウスを用いて免疫原性を評価した。その結果、ノロウイルス VLP ワクチンによって IgA 型、IgG 型の両方の液性免疫応答が誘導可能であること、更にこれらの抗体がノロウイルスに対して HBGA 結合阻害活性を有することを明らかにした。また、マウスノロウイルス感染モデルを使用することで、VLP ワクチンによって誘導される IgA 型抗体が優れた防御能を有することを確認した。

[小野寺大志、橋香奈、片山和彦(北里大学)、三好龍也(堺市衛生研究所)、小林和夫(大阪健康安全基盤研究所・客員研究員)、阿戸学(感染制御部)、高橋宜聖]

(2) ノロウイルス次世代ワクチンの開発に向けた交差防御抗体に関する研究

ヒトノロウイルスは GI, GII, GIV の遺伝子グループから成り、それらは更に数十に上る遺伝子型のウイルスに分類される。次世代型ワクチンとして、これら多岐にわたるウイルス遺伝子型をカバーする次世代ノロウイルスワクチンの開発が望まれている。本研究では昨年度に引き続きノロウイルスに対する交差防御免疫を解析し、ノロウイルス交差防御エピトープを同定することを目的としフローサイトメトリーによる交差反応性記憶 B 細胞の検出技術の開発を行った。結果、マウスノロウイルスを感染させた B6 マウスにおいてヒトノロウイルス GI.1 型、GII.4 型の両方に交差反応性を有する記憶 B 細胞が IgA 型、IgG 型共に存在することを明らかにした。更にヒト腸由来オルガノイドを用いた中和試験の結果、これらの交差反応性抗体は感染防御効果を有する事を明らかにした。

[小野寺大志、橋香奈、谷内和歌子(研究生)、村上耕介(ウイルス第二部)、高橋宜聖]

4. RS ウイルスに関する免疫研究

(1) Growth arrest specific 6 (Gas6) をバイオマーカーとした RSV ワクチン剤形の評価系の構築と評価

ホルマリン固定不活化 RSV (FI-RSV) 接種後に樹状細胞から産生される Gas6 がそのレセプター Axl に結合すると、Th2 免疫応答であるアレルギー性気道炎症を誘導することをこれまでに見出している。すなわち従来の RSV ワクチン接種後の RSV 自然感染に伴うアレルギー性気道炎症の誘導機構のひとつを説明した。このモデルでは、アレルギー性気道炎症の程度に相関し、肺における Th2 サイトカインレベルが Gas6 同様上昇した。一方、血中では Th2 サイトカインは検出できなかったが、Gas6 レベルはアレルギーの程度に相関し上昇した。つまり、Gas6 は新規ワクチン剤形の安全性評価においてより

鋭敏なバイオマーカーになり得ることが示唆された。なお、プレ型の RSV fusion タンパクやさらにそれを安定化させた DS-Cav1 を抗原とすると、血中 Gas6 レベルの上昇を含むアレルギー性気道炎症の誘導はみられなかった。また、これら抗原の接種は、非接種群と比較して RSV 感染後のウイルス量を有意に抑制し、マウスレベルでの安全性と有効性を示した。

[柴田岳彦、高橋宜聖、阿戸学(感染制御部)]

(2) RSV 感染に伴う二次性細菌感染の免疫学的機構の解明

RSV と細菌の重複感染は、乳児や高齢者において肺炎など重症化をしばしばひき起こす。我々は RSV 感染が誘導する免疫応答に注目し、重症化をもたらす免疫学的機構のひとつを解明した。肺炎球菌感染 1 日後の肺では、RSV との重複感染群の気道への細胞浸潤、炎症性サイトカイン産生、肺炎球菌のクリアランスが肺炎球菌単独感染と比較して抑制された。一方、肺炎球菌感染 6 日後の肺炎球菌単独感染群では炎症応答が終息したのに対して、RSV との重複感染群では強い感染がみられた。重複感染モデルにおいて Gas6 KO マウスや Axl に対する抗体または阻害剤の投与は、肺炎球菌感染後の初期炎症応答の抑制とそれに続く感染の増大、そして体重や生存率の低下を解消した。すなわち、RSV 感染により肺胞マクロファージから産生される Gas6 が Axl を介して二次性細菌感染を容易にし、病態の悪化を招いていることが示唆された。さらにこの Gas6/Axl シグナルは、M2 マクロファージを誘導することにより肺炎球菌感染に伴う IL-18 産生など感染初期の免疫応答を抑制し、結果として NK 細胞の IFN- γ 産生など肺炎球菌のクリアランスに重要な応答を阻害することにより強い感染を誘導することが明らかになった。この結果は、Gas6/Axl を標的とした新たな二次性細菌性肺炎などの予防・治療法の開発につながることを期待される。

[柴田岳彦、高橋宜聖、阿戸学(感染制御部)]

(3) RSV 感染に伴う喘息の増悪機構の解明

RSV 感染に伴い喘息の症状が悪化することがある。しかし、この免疫学的機構は明らかになっていない。そこで、イエダニ抗原誘導アレルギーモデルに RSV を感染させたマウス喘息増悪モデルを作製し、その機構の解明を試みた。この増悪グループでは、好中球と単球の増加、matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) の発現上昇がみられた。そこで、喘息マウスにリコンビナント MMP-12 を投与すると、喘息の病態が増悪した。すなわち、MMP-12 は増悪因子である可能性が示唆された。今後、MMP-12 産生機構や MMP-12 と気道抵抗の亢進における浸潤細胞の役割を明らかにすることにより、RSV 感染に伴う喘息の増悪に対する予防・治療法の開発につながることを期待される。

[牧野愛璃 (実習生)、柴田岳彦、高橋宜聖]

5. その他ウイルスに関する免疫研究

(1) ジカワクチン開発における有効性評価指標の研究
ジカウイルス、デングウイルス、日本脳炎ウイルスは、東南アジア地域で共に流行している。そのため、ジカワクチ

ンの開発に向けて、とくに他のフラビウイルスとの液性免疫の交差性に起因した抗体依存性感染増強のリスクを軽減したワクチンの開発研究が必要とされている。本研究では、ジカウイルスと他のフラビウイルスに交差するヒト抗体を網羅的に解析し、交差結合抗体パネルを作成した。そして、中和活性等の有無により複数のグループ分けを行い、今後のワクチン戦略を考える上で参考となる液性免疫に関する情報を収集した。

[Arnong Nithichanon (Khon Kaen 大学、タイ王国)、林昌宏(ウイルス一部)、鈴木亮介(ウイルス二部)、Ganjana Lertmemongkolchai (Khon Kaen 大学、タイ王国)、高橋宜聖]

(2) 抗体遺伝子レパトア解析による SFTS 発症機構の探索

マダニ媒介性全身性感染症である重症熱性血小板減少症候群(SFTS)においては、大型リンパ球が SFTSV の第一標的細胞であると考えられる。この細胞は形質芽細胞で B リンパ球系列であることから細胞表面抗体がウイルス粒子レセプターとして機能している可能性が考えられた。そこで、SFTS 患者に出現する SFTSV 陽性形質芽細胞様大型リンパ球群の抗体遺伝子レパトア全体像の解析を試みている。次世代シーケンサ(NGS)による網羅的抗体レパトア解析プロトコルを用いて、患者病理組織における抗体レパトアを解析した。その結果、以下のことが明らかになった。1) 比較的感染初期で、ウイルス感染細胞が全身に播種しておらず限局した組織に認められる症例において、ウイルス陽性組織に特徴的な抗体レパトアを同定した。このレパトアの抗体重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子を予測し、抗体遺伝子合成候補として選抜した。2) 感染後時間を経て、ウイルス感染細胞が全身に播種している症例において、全身の各組織・器官におけるウイルスゲノム数と抗体レパトア(CDR3 クロノタイプ)出現頻度の相関関係を求める手法を開発し、有意な相関係数を持つレパトアを同定した。このレパトアの抗体重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子を予測し、抗体遺伝子合成候補として選抜した。3) これらの抗体レパトアのクロノタイプ(特に CDR3 配列)について主成分分析などを用いて解析し、共通なレパトア特性の抽出を試みた。ウイルス標的細胞表面の抗体レパトア共通因子を同定することにより、SFTS 病態形成における形質芽細胞の存在意義を明らかにするとともに、SFTSV 感染機構の解明を目指している。

[大西和夫、鈴木忠樹(感染病理部)、大場靖子(北海道大学)、佐野芳(感染病理部)、相内章(感染病理部)、薛漢兵(研究生)]

II. 細菌感染症

1. 抗酸菌感染症に関する研究

(1) 非結核性抗酸菌感染患者におけるインターフェロン γ 自己抗体に関する研究

インターフェロン γ (IFN- γ) に対する自己抗体を保有し、IFN- γ シグナルを阻害することによって、難治性の播種性非結核性抗酸菌感染症等を発症することが近年問題となっている。特にタイ北東部に於いては患者が多数発生し、播種性 *Mycobacterium abscessus* 感染症の遷延化、

再燃が問題となっている。2016年にLinらにより抗IFN- γ 自己抗体の結合するエピトープがIFN- γ 分子のC末端であり、そのペプチド配列がアスペルギルスNoc2タンパクと交差することが報告されたが、当該文献からもエピトープは複数あることが示唆されており、その詳細については不明である。現在我々は、タイ王国における患者検体・情報を解析して、新規エピトープの同定、交差抗原の同定、患者居住区域における原因抗原との接触状況調査による抗IFN- γ 自己抗体産生過程の解明を試みている。また、患者血漿とリコンビナントIFN- γ タンパク質を反応させた後に、IFN- γ のELISAを行うといった阻害ELISA法により、高感度かつ高特異度的に非結核性抗酸菌感染症の診断が行え、さらに非結核性抗酸菌感染症が活動性あるいは非活動性なのか判別可能なことを見出した。

[Arnone Nithichanon (Khon Kaen 大学、タイ王国)、松村隆之、阿戸学 (感染制御部)、Ganjana Lertmemongkolchai (Khon Kaen 大学、タイ王国)、高橋宜聖]

(2) 菌体表層および菌体外構造物に関する研究

電子顕微鏡を用いて抗酸菌 *Mycobacterium smegmatis* の観察を行ったところ、菌体表面に線維状の構造物が観察された。この構造物は形態から pili と推察された。glycopeptidolipids (GPL) 欠損株では菌体表面の GPL 層および pili 様構造物が失われており、pili 様構造物は GPL と同様に sliding や宿主細胞との相互作用に関与する可能性が示唆された。

[岡部真裕子、川本晃大・難波啓一 (大阪大学)、小林和夫 (大阪健康安全基盤研究所・客員研究員)、高橋宜聖、大原直也 (岡山大学・客員研究員)、阿戸学 (感染制御部)]

2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する免疫研究

(1) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に対する防御免疫に関する研究

A群レンサ球菌 (Group A *Streptococcus*: GAS) は、通常、上気道粘膜もしくは皮膚表面で局所感染を引き起こすが、劇症型溶血性レンサ球菌感染症では急激なショックと菌血症を伴う致死的全身感染となる。しかし、劇症型溶血性レンサ球菌感染発症と病態に対する炎症メディエーターの関与は不明な点が多い。今回、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者血清中のサイトカイン・ケモカイン量を測定した結果、血中インターロイキン (IL)-6、IL-8、単球走化性タンパク質 (MCP)-1 レベルは、患者の死亡例より生存例において高いことが示された。IL-8 や MCP-1 はそれぞれ好中球や単球の遊走に関わるため宿主防御に重要であることが予想された。また、抗リウマチ治療薬である IL-6 受容体阻害剤の投与が劇症型感染症発症の危険因子である可能性を示す文献が複数報告されていたため、IL-6 に着目した基礎研究を行った。その結果、感染後期の血中 IL-6 レベルは非劇症型 A 群レンサ球菌感染マウスモデルより劇症型感染マウスモデルにおいて高くなること、感染後期の IL-6 を抗体により中和すると感染が増悪化すること、感染後期の主要な IL-6 産生細胞は宿主防御に寄与するインターフェロン (IFN)- γ 産生未熟骨髄系細胞 (γ IMCs) であることが示された。

また、 γ IMCs において Toll 様受容体 (TLR)2 による A 群レンサ球菌の感知により IL-6 が誘導され、オートクラインおよびパラクラインによって、IL-6 が γ IMCs 上の C 型レクチン受容体の一つである Mincle を発現増強させることが示された。さらに、Mincle は A 群レンサ球菌のリポタイコ酸アンカーを認識する受容体であることや、 γ IMCs における Mincle 発現はマクロファージ等の活性化因子である IFN- γ の産生に必須であることが示された。すなわち、 γ IMCs における TLR2 と Mincle による A 群レンサ球菌のシークエンシャル・センシングによって宿主防御免疫が誘導されることを見出された。本研究により、劇症型 A 群レンサ球菌感染マウスモデルにおける防御免疫機構の一部が解明された。[松村隆之、池辺忠義 (細菌第一部)、大西真 (細菌第一部)、吉澤定子 (東邦大学)、山崎晶 (大阪大学)、竹山春子 (早稲田大学)、高橋宜聖、阿戸学 (感染制御部)]

(2) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に対する抗体療法に関する研究

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の大部分は A 群レンサ球菌感染が原因となる。また、劇症型感染を起こした A 群レンサ球菌の約 6 割には主要な毒素ストレプトリジン O 等の産生抑制を解除する遺伝子変異が認められている。今回、ガス壊疽菌群の一種、ウェルシュ菌のパーフリンゴリジン O に結合してその溶血活性を中和するモノクローナル抗体 (HS1, HS2, HS3) の中で、HS1 がストレプトリジン O を中和し、劇症型 A 群レンサ球菌感染動物モデルやヒト好中球への感染モデルにおいて治療効果を発揮することが明らかとなった。[松村隆之、池辺忠義 (細菌第一部)、大西真 (細菌第一部)、千葉丈 (感染病理部)、高橋宜聖、阿戸学 (感染制御部)]

III. 免疫機能に関する研究

1. 新規網羅的配列解析手法を用いた抗体レパトア総体の明示と逆遺伝学的抗体分子発現

感染症やワクチン免疫によって誘導される抗体応答を網羅的に解析する新規手法の構築を進めている。次世代シークエンサーを用いてインフルエンザワクチンを投与した個体内で発現する抗体分子群の RNA 配列を網羅的に取得し、抗体の V(D)J 再構成により形成される抗原認識多様性の空間、すなわち抗体レパトア空間の全体像を可視化してその動態を解析する新規システムを構築した。これにより、マウス個体内で形成される抗体レパトアの発生過程、抗原刺激による抗体レパトア動態力学の全視野的解析、新規抗体分子配列の遺伝子合成による逆遺伝学的発現とウェット実験による抗原結合性確認、レパトア形成におけるプレ B 細胞受容体の役割、などの研究を行った。また、抗体遺伝子合成・抗体分子発現システムに用いて種々の抗体重鎖と結合することができる「汎用抗体軽鎖」分子のプロトタイプを設計・作製した。新興感染症に対する抗体医薬開発や新規ワクチン開発などに応用できる。

[大西和夫、薛漢兵 (研究生)、野口保 (東京薬科大学)、藤本浩文 (品質保証管理部)、藤博幸 (関西学院大学)]

2. ヒト化マウスの解析

ヒト免疫細胞の分化を伴う、いわゆる“ヒト化マウス”はヒト

造血系やヒト指向性病原体感染の *in vivo* モデルとして広く用いられている。しかしながら、骨髄系細胞の分化誘導に寄与するサイトカインの種特異性は高いため、ヒト化マウスでは樹状細胞を含む骨髄系細胞の分化・機能は未熟であるとされている。本研究では、ヒト化マウスにヒトサイトカインである Flt3-L および GM-CSF を誘導させることで、樹状細胞の分化レベルを向上させることを目指した。サイトカイン誘導後の脾臓および骨髄を解析した結果、Flt3-L は骨髄系樹状細胞群の数的向上に寄与すること、GM-CSF は骨髄系樹状細胞群の成熟化に寄与することが明らかとなった。また、T 細胞の性状について解析したところ、GM-CSF 単独誘導下では Foxp3hi 制御性 T 細胞が有意に誘導されたのに対し、Flt3-L・GM-CSF 同時誘導下では Foxp3lo Th17 様 T 細胞が有意に誘導された。Flt3-L および GM-CSF は T 細胞に直接作用するとは考えにくく、サイトカインによる樹状細胞の性状変化が T 細胞の分化指向に影響することが示唆された。

[岩淵龍太郎(研究生)、寺原和孝、小林(石原)美栄(協力研究員)、横田恭子(客員研究員)、阿戸学(感染制御部)、竹山春子(早稲田大学)]

IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケグモ抗毒素の力価試験、品質管理試験

セアカゴケグモ咬傷は、咬傷部の疼痛が主な症状であるが、その後の疼痛増強や全身に多彩な症状が認められることがある。治療は、対症療法とウマ抗毒素の投与であるが、我が国では抗毒素が薬事承認されていないため、製造元であるオーストラリア CSL 社から医師の個人輸入により、抗毒素の保管・投与が行われているのが実情である。しかし、国内への抗毒素輸入が必ずしも確実でないことから、2015 年度に国内初のセアカゴケグモ抗毒素が製造された。今年度は例年通り、その保存安定性試験を行い、2015 年度に製造した国産抗毒素の力価がほぼ変化していないことを確認した。[松村隆之、山本明彦(バイオセーフティ管理室)、沢辺京子(昆虫医学部)、高橋宜聖、阿戸学(感染制御部)]

品質管理に関する業務

I. 国家検定

乾燥はぶウマ抗毒素:1 ロット

[松村隆之、高橋宜聖]

エンドトキシン試験:256 ロット

[寺原和孝、小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛(非常勤職員)、高橋宜聖]

II. 抜き取り検査

エンドトキシン試験:10 ロット

[寺原和孝、小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛(非常勤職員)、高橋宜聖]

III. 承認前試験

エンドトキシン試験:3 ロット

[小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛(非常勤職員)、高橋宜聖]

IV. 標準品交付

標準はぶ抗毒素(抗致死、抗出血 I 及び抗出血 II)

[松村隆之、高橋宜聖]

V. 体外診断薬委員会業務

承認前検査担当項目として、承認申請のあった A 型肝炎ウイルス(HAV)抗体測定用キットについて感度、特異性及び再現性試験を行うことになっている。また、この検査に必要な HAV 抗体国内血清パネルの整備を行う。また体外診断薬委員会に提出された各種体外診断薬の承認前検査申請について審査を行った。

[寺原和孝、高橋宜聖]

1. A 型肝炎ウイルス(HAV)検体パネルの整備

HAV 感染予防対策の基礎となる感染診断法のうち最も多用されるのは HAV 抗体検出キットで、A 型肝炎診断補助検査全体の 95%以上を占める。この HAV 抗体検出キットは数年ごとに感度・特異性の向上したバージョンが開発されるため、新しい HAV 抗体検出キットの継続的な性能評価が必要とされている。免疫部ではその性能評価の基礎となる感染症検体パネル(IgM、IgG 型 HAV 抗体パネル)の整備を進めており、これまで IgG 型 HAV 検体パネルの整備を完了した。一方 IgM 型 HAV 検体については、国立病院機構の肝炎研究班に属する医療機関と、国内の肝疾患診療連携拠点病院に検体の譲渡を依頼し、平成 30 年度終了時点で合計 20 検体を収集するに至っている。

[寺原和孝、是永匡紹(国立国際医療研究センター)、八橋弘(国立病院機構長崎医療センター)、高橋宜聖]

国際協力関係業務

I. Khon Kaen 大学(タイ王国)とウイルス・細菌感染症の免疫応答について共同研究を推進し、Khon Kaen 大学の博士号研究員を受け入れ、実験手技と研究の指導にあたった。[松村隆之、阿戸学(感染制御部)、高橋宜聖]

II. まむし毒素国際標準品候補品の評価試験

韓国 National Institute of Food and Drug Safety Evaluation より、韓国まむし抗毒素標準品候補品を評価するための試験を依頼され、抗致死価測定と抗出血価測定を実施し、試験結果を報告した。[松村隆之、阿戸学(感染制御部)、高橋宜聖]

研修業務

I. 大学など教育機関における講義や研修

早稲田大学先進理工学部(10月22日、10月29日、11月5日、11月12日)で免疫学講義を行った。[高橋宜聖]

琉球大学医学部の医科学研究(12-2月)を担当した。[寺原和孝]

東京バイオテクノロジー専門学校生の卒業研究実習(1年間)を担当した。[松村隆之]

東邦大学大学院理学研究科(10月22日、29日)で講義を行った。[柴田岳彦]

筑波大学生命環境学群(9月10-11日ほか)で講義を行った。

筑波大学大学院生命科学研究科(11月29日ほか)で講義を行った。

慶應義塾大学法学部(4月13日、20日ほか)で講義を行った。

[大西和夫]

共同利用機器管理

所内・所外の利用者による機器の利用を円滑にするため、機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存した。さらに、機器の定期的な保守、点検を行い、故障等のトラブルには早急に対処した。とくに新規使用者や、特殊な操作法を希望する使用者に関しては、個別に技術指導を行った。平成30年度の使用実績は、938回、2256時間であった。

[泉山枝里子(非常勤職員)、小野寺大志、高橋宜聖]

広報委員会

広報委員会(広報運営委員会)において、所の広報活動全般(見学研修、Info対応、所内行事記録、「知の市場」の連絡・会場設営、一般公開等)の企画・運営に参画した。[大西和夫]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1). Sun L, Kono N, Toh H, Xue H, Sano K, Suzuki T, Aina A, Orba Y, Yamagishi J, Hasegawa H, Takahashi Y, Itamura S, Ohnishi K. Identification of Mouse and Human Antibody Repertoires by Next-Generation Sequencing. **J. Vis. Exp.** 145. 2019
- 2). Yamamoto T, Masuta Y, Momota M, Kanekiyo M, Kanuma T, Takahama S, Moriishi E, Yasutomi Y, Saito T, Graham BS, Takahashi Y, Ishii K.J. A unique nanoparticulate TLR9 agonist enables a HA split vaccine to confer FcγR-mediated protection against heterologous lethal influenza virus infection. **Int. Immunol.**, 31:81-90, 2019
- 3). Sato K, Takahashi Y, Adachi Y, Asanuma H, Ato M, Tashiro M, Itamura S. Efficient protection of mice from influenza A/H1N1pdm09 virus challenge infection via high avidity serum antibodies induced by booster immunizations with inactivated whole virus vaccine. **Heliyon**. 3;5(1):e01113. 2019
- 4). Imai T, Matsumura T, Mayer-Lambertz S, Wells CA, Ishikawa E, Butcher SK, Barnett TC, Walker MJ, Imamura A, Ishida H, Ikebe T, Miyamoto T, Ato M, Ohga S, Lepenies B, van Sorge NM, Yamasaki S. Lipoteichoic acid anchor triggers Mincle to drive protective immunity against invasive group A Streptococcus infection. **Proc Natl Acad Sci USA**. 115(45):E10662-E10671. 2018
- 5). Chu C, Moriyama S, Li Z, Zhou L, Flamar AL, Klose CSN, Moeller JB, Putzel GG, Withers DR, Sonnenberg GF, Artis D. Anti-microbial functions of group 3 innate lymphoid cells in gut-associated lymphoid tissues are regulated by G-protein-coupled receptor 183. **Cell Rep.** 23(13):3750-3758. 2018
- 6). Hashi K, Imai C, Yahara K, Tahmina K, Hayashi T,

Azuma T, Miyabe-Nishiwaki T, Sato H, Matsuoka M, Niimi S, Okamoto M, Hatakeyama M. Evaluating the origin and virulence of a *Helicobacter pylori* cagA-positive strain isolated from a non-human primate. **Sci Rep.** 8(1):15981. 2018.

- 7). Iwabuchi R, Ikeno S, Kobayashi-Ishihara M, Takeyama H, Ato M, Tsunetsugu-Yokota Y, Terahara K. Introduction of human Flt3-L and GM-CSF into humanized mice enhances the reconstitution and maturation of myeloid dendritic cells and the development of Foxp3+CD4+ T cells. **Front Immunol.**9:1042. 2018
 - 8). Kobayashi-Ishihara M, Terahara K, Martinez JP, Yamagishi M, Iwabuchi R, Brander C, Ato M, Watanabe T, Meyerhans A, Tsunetsugu-Yokota Y. HIV LTR-driven antisense RNA by itself has regulatory function and may curtail virus reactivation from latency. **Front Microbiol** 9:1066, 2018
 - 9). Yamamoto A, Harano S, Shinya N, Nagano A, Miyatsu Y, Sawabe K, Matsumura T, Ato M, Takahashi M, Taki H, Hifumi T. Freeze-dried equine-derived redback spider antivenom: a local irritation study by intramuscular injection in rabbits and a repeated-dose toxicity study in rats. **J Toxicol Pathol.** 31(2):105-112. 2018
2. 和文発表
- 1). 柴田岳彦, 高橋宜聖 次世代ワクチン開発の現状と展望-RS ウイルスワクチンを例に **BIO Clinica** 34 (2) 2019
 - 2). 森山彩野 β2 アドレナリン受容体による2型自然リンパ球の応答の抑制 臨床免疫・アレルギー科(科学評論社) 2019
 - 3). 安達悠, 小野寺大志, 登内奎介, 高橋宜聖 ウイルスの免疫回避術に対応した B 細胞免疫の誘導戦略 臨床免疫・アレルギー科(科学評論社) 2018
 - 4). 松村隆之, 阿戸学 A 群レンサ球菌感染制御における骨髄系細胞の役割 臨床免疫・アレルギー科(科学評論社) 2018

II. 学会発表

1. 国際学会.

- 1). Takahashi Y. 2019 Humoral immunity against mutating viruses. Infection and Immunity(タイ 2月)
- 2). Adachi Y, Nithichanon A, Kuraoka M, Watanabe A, Shinnakasu R, Asanuma H, Aina A, Yamamoto T, Ishii K J, Hasegawa H, Lertmemongkolchai G, Kurosaki T, Ato M, Kelsoe G, Takahashi Y. 2019 Local germinal center B cells target conserved epitopes that are occluded in native viral antigen. Keystone Symposia (B cell-T cell interactions).(米国 2月)
- 3). Bajic G, Maron MJ, Adachi Y, Onodera T, McCarthy KR, McGee CE, Sempowski GD, Takahashi Y, Kelsoe G, Kuraoka M, Schmidt AG. 2019 Immune focusing to a broadly protective subdominant viral

- epitope by antigen engineering. Keystone Symposia (B cell-T cell interactions). (米国 2月)
- 4). Watanabe A, McCarthy KR, Kuraoka M, Schmidt AG, Adachi Y, Onodera T, Caradonna TM, Bajic G, McGee CE, Sempowski GD, Kepler TB, Takahashi Y, Harrison SC, Kelsoe G. 2019 Broadly Protective Antibodies to an Occluded Influenza Hemagglutinin Head Epitope. Keystone Symposia (B cell-T cell interactions). (米国 2月)"
 - 5). Nomura T, Ishii H, Terahara K, Yamamoto H, Miura T, Tokusumi T, Hironaka T, Shu T, Matano T. 2018 Induction of Gag-specific CD8+ T cell responses in rhesus macaque rectum mucosa by intranasal Sendai virus vector immunization. 36th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. (米国 10月)
 - 6). Ishii H, Terahara K, Nomura T, Tokusumi T, Hironaka T, Shu T, Matano T. 2018 A novel immunogen selectively eliciting CD8+ T cells but not CD4+ T cells targeting viral antigens. HIV Research for Prevention. (スペイン 10月)
 - 7). Takahashi Y. 2018 Germinal center and B-cell memory: understanding the functions for viral immunity. departmental seminar at Duke University, Department of Immunology Durham, NC(米国 9月)
2. 国内学会
- 1). 高橋宜聖 2019 ウイルスの弱点を標的とした次世代ワクチンの開発 日本薬学会第 139 年会シンポジウム(千葉 3月)
 - 2). Adachi Y, Nithichanon A, Kuraoka M, Watanabe A, Shinnakasu R, Yamamoto T, Ishii K.J, Lertmemongkolchai G, Kurosaki T, Ato M, Kelsoe G, Takahashi Y. 2018 Influenza hemagglutinin cryptic epitopes that select broadly reactive germinal center Bcells in local site. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会 (福岡 12月)
 - 3). Matsumura T, Yamasaki S, Ato M, Takahashi Y. 2018. The IL-6/Mincle axis in immature myeloid cells is critical to protect against severe invasive group A Streptococcus infection. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会(福岡 12月)
 - 4). Onodera T, Ato M, Takahashi Y. 2018 Virus-like particle structure enhances protective IgA antibody responses against noroviruses. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会 (福岡 12月)
 - 5). Shibata T, Ito T, Takahashi Y, Ato M. 2018. RSV induces suppressive Gas6/Axl signaling in macrophages increasing susceptibility to secondary S. pneumoniae infection. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会 (福岡 12月)
 - 6). Sugimoto-Ishige A, Tanaka M, Harada M, Adachi Y, Takahashi Y, Takemori T, Hikida M. 2018 Bim regulates selection of germinal center B cells During the transition into memory cell precursors, but not during the interzonal cycles of division in the dark zone. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会 (福岡 12月)
 - 7). Yamamoto T, Masuta Y, Momota M, Takahashi Y, Ishii J.K. 2018 Adjuvant effect of a nanoparticulate TLR9 agonist for protection against heterologous influenza challenge through FcR γ -mediated effector functions. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会 (福岡 12月)
 - 8). Xue H, Ohnishi K. 2018 Universal Light Chain : A light chain that can match with a wide range of heavy chains maintaining the antigen affinity of the heavy chain. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会(福岡 12月)
 - 9). Moriyama S, Artis D. 2018 β 2 adrenergic receptor-mediated negative regulation of group 2 innate lymphoid cell responses. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会 (福岡 12月)
 - 10). Imai T, Matsumura T, Miyamoto T, Ato M, Yamasaki S, Ohga S. 2018. Critical role of Mincle in protection against invasive infection by group A Streptococcus. 第 50 回日本小児感染症学会総会・学術集会/第 9 回アジア小児感染症学会学術集会(福岡 11月)
 - 11). 松村隆之. 2018 A 群レンサ球菌感染制御における未熟骨髄系細胞の役割. 第 17 回微生物研究会「微生物分子生物学のフロンティア」(東京 11月)
 - 12). Miki S, Kawai Y, Kaneko S, Terahara K, Tsunetsugu-Yokota Y, Matano T, Kawana-Tachikawa A. 2018 Functional analysis of HIV-1 specific CTL rejuvenated by iPS cell technology. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会 (京都 10月)
 - 13). Nomura T, Terahara K, Ishii H, Yamamoto H, Miura T, Matano T. 2018 Crossreactivity of vaccine-induced CD8+ T cells targeting a Gag epitope. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会(京都 10月)
 - 14). Terahara K, Iwabuchi R, Hosokawa M, Takeyama H, Tsunetsugu-Yokota Y. 2018. Preferential entry of CCR5-tropic HIV-1 over CXCR4-tropic HIV-1 into resting CCR5+CXCR4+ memory CD4+ T cells. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会(京都 10月)
 - 15). Hashi K, Imai C, Yahara K, Azuma T, Hayashi T, Miyabe-Nishiwaki T, Tahmina K, Sato H, Matsuoka M, Niimi S, Okamoto M, Hatakeyama, M. 2018 Evaluation of a *Helicobacter pylori* *cagA*-positive strain isolated from a non-human primate. The 37th Sapporo International Cancer Symposium. (札幌 7月)
- 知的財産権の出願・登録状況
- 1). 松村隆之、佐藤博子、千葉丈、阿戸学、高橋宜聖 抗体並びに劇症型溶血性レンサ球菌感染症を予防及び／又は治療するための薬剤。特願 2019-010958